Product sheet

DI TNC1 sejtek | 305343

Általános információk

Description	A DI TNC1 sejtvonal egy immortalizált asztrocita modell, amely az újszülött patkány diencephalonjából származó primer 1-es típusú asztrocitákból származik. A sejteket a poliomavírus középső T-antigénjének felhasználásával immortalizálták, ami biztosítja számukra a korlátlan szaporodás képességét, miközben megőrzi a primer asztrociták számos jellemzőjét. A DI TNC1 sejteket széles körben használják neuroinflammációs és neuroprotektív vizsgálatokban, különösen az asztrociták energiaanyagcseréjének, az oxidatív stresszre adott válaszreakciónak és a gyulladásos útvonalak szabályozásának feltárására. Ezek a sejtek olyan kulcsfontosságú asztrocita markereket expresszálnak, mint a gliafibrilláris savas fehérje (GFAP) és az S100β fehérje, és részt vesznek az anyagcsere-folyamatokban, beleértve a glikogénraktározást és a neuronok energiaellátását. A DI TNC1 asztrociták egyik jellemzője az energiaanyagcsere-vizsgálatokban való részvételük. A kutatások kimutatták, hogy ezek a sejtek különböző neurotranszmitterekre, például noradrenalinra és vazoaktív bélpeptidre (VIP) glikogenolízissel és a ciklikus AMP (cAMP) szintjének modulálásával reagálnak. Továbbá a DI TNC1 sejtek bizonyítottan hasznosítják a glükózt és laktátot termelnek, amelyek létfontosságúak a neuronális funkciók támogatásához. Azonban bizonyos, az elsődleges asztrocitákban megfigyelhető válaszok, mint például a glutamát-stimulált glikolízis vagy a jelentős hosszú távú glikogén reszintézis, nem olyan robusztusak a DI TNC1 sejtekben. Ez rávilágít a DI TNC1 sejtek hasznosságára az asztrociták fiziológiájának olyan specifikus aspektusainak feltárásában, amelyek a központi idegrendszer energiadinamikája szempontjából relevánsak. A DI TNC1 sejtek felhasználásával végzett vizsgálatok másik jelentős területe az oxidatív stressz és a gyulladásos jelátviteli útvonalak vizsgálata. A DI TNC1 sejteket például a nukleáris faktor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) és a nukleáris faktor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) útvonalak szabályozásának elemzésére használták. Az olyan növényi polifenolokkal, mint a kvercetin és az olyan növények kivonatával, mint az Ashwagandha, végzett kísérletek azt mutatták, hogy ezek a vegyületek képesek modulálni az NF-κB és az Nrf2/ARE (antioxidáns válaszelem) útvonalakat a DI TNC1 asztrocitákban. Konkrétan a kvercetin gátolja a lipopoliszacharid (LPS) által kiváltott NF-κB aktivitást és fokozza az Nrf2 által közvetített antioxidáns védelmet, ami szemlélteti e sejtek potenciálját a gyulladáscsökkentő és neuroprotektív szerek szűrésére.
Organism	Patkány
Tissue	Agy, agyvelő
Disease	Normál
Synonyms	DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Jellemzők

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	1 nap
Gender	Meghatározatlan

DI TNC1 sejtek | 305343

Morphology	Fibroblasztok
Cell type	Asztrocita, II-es típus
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	DI TNC1 (Cytion katalógusszám: 305343)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0247
GMO Status	GMO-S1: Ez a patkány asztrocita sejtvonal (DI TNC1) tartalmaz egy SV40 korai régiójú konstrukciót GFAP promóter kontroll alatt, amelyet plazmid transzfekcióval juttatnak be, lehetővé téve az immortalizációt. Az inzert stabil az elsődleges asztrocitákból származó sejtekben. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression	Kifejeződő gének: alfa-2 makroglobulin, transzferrin
Tumorigenic	Nem, immunszupprimált egereken tesztelték, de félszilárd táptalajon kolóniákat képeztek
Viruses	Transzformáns: Simian virus 40 (SV40)

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase

DI TNC1 sejtek | 305343

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

DI TNC1 sejtek | 305343

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.